

## 论著·临床研究

## MLL 基因重排阳性的儿童急性白血病患者临床特点及预后分析

刘青<sup>1</sup>, 张娜<sup>1</sup>, 邵静波<sup>1</sup>, 李红<sup>1</sup>, 陈凯<sup>1</sup>, 杜成坎<sup>2</sup>, 王真<sup>1</sup>, 蒋慧<sup>1</sup>

1. 上海交通大学附属儿童医院/上海市儿童医院血液肿瘤科, 上海 200040; 2. 上海交通大学附属儿童医院/上海市儿童医院检验科, 上海 200040

**[摘要]** **目的**·分析混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)基因重排(MLL rearrangement, MLL-r)阳性的儿童急性白血病(acute leukemia, AL)患者的临床特点及预后情况。**方法**·回顾性分析2009年1月1日至2019年12月31日上海交通大学附属儿童医院收治的MLL-r AL患儿45例。采用荧光原位杂交和/或实时荧光定量PCR检测MLL-r。Kaplan-Meier法评估患儿生存情况, Log-rank检验比较各组生存率。对性别、年龄、白细胞数等影响生存的指标进行单因素和多因素分析。**结果**·AL患儿MLL-r的检出率为7.1%;在急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)和急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)中MLL-r的检出率分别为5.4%和13.3%,二者差异有统计学意义( $P=0.002$ );2组患儿的年龄(>1岁和≤1岁)和初发时白细胞数( $\geq 50 \times 10^9/L$ 和 $< 50 \times 10^9/L$ )比较,差异均有统计学意义( $P=0.032$ 和 $P=0.021$ )。MLL-r ALL患儿的免疫分型以早期前体B-ALL为主,占79.2%;MLL-r AML患儿以M<sub>5</sub>为主,占77.8%。MLL伙伴基因分析,ALL患儿MLL/AF4占59.2%(16/27),其中小于1岁的患儿占68.7%(11/16),与非MLL/AF4组小于1岁的患儿数相比差异有统计学意义( $P=0.034$ );AML患儿以MLL/AF9为主,占33.3%。42例患儿可进行疗效分析,完全缓解率为97.6%(41/42),中位随访时间26个月(2~138个月),中位无事件生存(event-free survival, EFS)和总生存(overall survival, OS)时间分别为21个月和24.5个月,3年EFS和OS率分别为(41.8±9.4)%和(60.9±9.3)%。MLL-r ALL患儿中位EFS和OS时间分别为21.5个月和28个月,3年EFS和OS率分别为(44.3±11.7)%和(58.2±12.1)%。MLL-r AML患儿中位EFS和OS时间分别为16个月和23个月,2年EFS和OS率分别为(36.5±15.8)%和(64.7±14.5)%。ALL患儿复发8例,中位复发时间20个月(2~36个月);AML患儿复发7例,中位复发时间16个月(5~38个月);二者累积复发率分别为48.4%和63.9%,差异无统计学意义( $P=0.398$ )。单因素分析显示,MLL-r ALL患儿年龄>1岁与≤1岁组、白细胞数 $\geq 50 \times 10^9/L$ 与 $< 50 \times 10^9/L$ 组、血小板数 $> 30 \times 10^9/L$ 与 $\leq 30 \times 10^9/L$ 组EFS率比较差异均有统计学意义, $P$ 值分别为0.028、0.024和0.027。多因素分析显示发病时的白细胞数为影响MLL-r ALL患儿EFS的独立预后因素( $RR=6.113$ , 95%  $CI$  0.017~1.050,  $P=0.013$ )。 **结论**·AML患儿MLL-r的发生率比ALL患儿高。MLL-r ALL患儿免疫分型以早期前体B-ALL为主,MLL-r AML患儿多见于M<sub>5</sub>型。MLL-r阳性儿童白血病患者化学治疗的缓解率尚可,但复发率高。发病时的白细胞数 $\geq 50 \times 10^9/L$ 是MLL-r ALL患儿的不良预后因素。

**[关键词]** 白血病;混合谱系白血病基因;儿童;预后分析

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.07.009 **[中图分类号]** R733.71 **[文献标志码]** A

### Clinical characteristics and prognosis of pediatric acute leukemia patients with MLL gene rearrangements

LIU Qing<sup>1</sup>, ZHANG Na<sup>1</sup>, SHAO Jing-bo<sup>1</sup>, LI Hong<sup>1</sup>, CHEN Kai<sup>1</sup>, DU Cheng-kan<sup>2</sup>, WANG Zhen<sup>1</sup>, JIANG Hui<sup>1</sup>

1. Department of Hematology and Oncology, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China

**[Abstract]** **Objective**·To analyze the clinical characteristics and prognosis of pediatric acute leukemia (AL) patients with positive mixed lineage leukemia (MLL) gene rearrangement (MLL-r). **Methods**·Forty-five children with MLL-r AL admitted to Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University from January 1, 2009 to December 31, 2019 were retrospectively analyzed. Fluorescence *in situ* hybridization and/or fluorescent real-time PCR were used to detect the MLL-r. Kaplan-Meier method was used to evaluate the survival of children. Log-rank test was used to compare the difference of survival rate. Univariate analysis and multivariate analysis were performed on the factors influencing survival, such as gender, age and the number of white blood cells. **Results**·The incidence rate of MLL-r in children with AL in our center was 7.1%, and the incidence rate of MLL-r in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and acute myeloid leukemia (AML) were 5.4% and 13.3%, respectively. The difference between the two groups was statistically significant ( $P=0.002$ ). The age of the two groups of children (>1 year and ≤1 year) and the number of white blood cells at the time of onset ( $\geq 50 \times 10^9/L$  and  $< 50 \times 10^9/L$ ) were compared. The differences were statistically significant ( $P=0.032$  and 0.021). The main immunophenotype of children with MLL-r ALL was early precursor B-ALL, accounting for 79.2%. The main immunophenotype of children with MLL-r AML was M<sub>5</sub>, accounting for

**[基金项目]** 上海市卫生健康委员会科研课题基金(20194Y0112);上海申康医院发展中心重大临床研究项目(SHDC2020CR4089)。

**[作者简介]** 刘青(1987—),女,硕士生;电子信箱:liuqing.ting@163.com。

**[通信作者]** 张娜,电子信箱:abczhangna@hotmail.com。

**[Funding Information]** Scientific Research Project of Shanghai Municipal Health Commission (20194Y0112); Major Clinical Research Projects of Shanghai Shengkang Hospital Development Center (SHDC2020CR4089)。

**[Corresponding Author]** ZHANG Na, E-mail: abczhangna@hotmail.com。

**[网络首发]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2045.R.20210629.1043.004.html> (2021-06-29 14:59:31)。



77.8%。 *MLL* partner gene analysis showed that *MLL/AF4* accounted for 59.2% (16/27) of *MLL-r* ALL children, of which 68.7% (11/16) were children younger than 1 year old. Compared with the children younger than 1 year old in the non-*MLL/AF4* group, the difference was statistically significant ( $P=0.034$ ). The majority of children with *MLL-r* AML were *MLL/AF9*, accounting for 33.3%. Of the 45 patients, 42 cases were included for the prognosis analysis. The complete remission rate was 97.6% (41/42), and the median follow-up time was 26 (2–138) months. The median event-free survival (EFS) and overall survival (OS) time were 21 months and 24.5 months, respectively. The 3-year EFS and OS rates were (41.8±9.4) % and (60.9±9.3) %, respectively. The median duration of EFS and OS in children with *MLL-r* ALL were 21.5 months and 28 months, respectively, and the 3-year EFS and OS rates were (44.3±11.7) % and (58.2±12.1) %, respectively. The median EFS and OS time in children with *MLL-r* AML were 16 months and 23 months, respectively. The 2-year EFS and OS rates were (36.5±15.8) % and (64.7±14.5) %, respectively. Eight cases of ALL children relapsed, with a median recurrence time of 20 (2–36) months; 7 cases of AML children relapsed, with a median recurrence time of 16 (5–38) months, and the cumulative recurrence rates were 48.4% and 63.9%, respectively. There was no statistically significant difference between them ( $P=0.398$ ). Univariate analysis showed that between the groups of *MLL-r* ALL children >1 year and ≤1 year, white blood cell count  $\geq 50 \times 10^9/L$  and  $< 50 \times 10^9/L$ , platelet count  $\geq 30 \times 10^9/L$  and  $< 30 \times 10^9/L$ , there were statistically significant differences in the EFS rate. The  $P$  values were 0.028, 0.024 and 0.027 respectively. Multivariate analysis showed that the number of white blood cells at onset was an independent prognostic factor affecting EFS in children with *MLL-r* ALL ( $RR=6.113$ , 95%  $CI$  0.017–1.050,  $P=0.013$ ). **Conclusion** The incidence of *MLL-r* in children with AML is higher than that in children with ALL. The main immunophenotype of *MLL-r* ALL is early precursor B-ALL. The main immunophenotype of *MLL-r* AML is  $M_3$ . Conventional chemotherapy produces a high response rate, which is likely to relapse. The number of white blood cells at the onset  $\geq 50 \times 10^9/L$  is a poor prognostic factor for children with *MLL-r* ALL.

**[Key words]** leukemia; mixed-lineage leukemia genes; children; prognostic analysis

混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, *MLL*) 基因位于11号染色体长臂2区3带 (11q23), 其重排导致与“伙伴”基因的融合, 从而转录出融合基因转录本, 并编码相应的蛋白, 可引起造血祖细胞的异常自我更新和表观遗传调控紊乱, 从而诱发白血病的发生, 是恶性血液病常出现的基因之一。可见于15%~20%儿童急性髓细胞性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 和2.5%~5%的儿童急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL), 在婴幼儿急性白血病 (acute leukemia, AL) 中占75%<sup>[1]</sup>。

*MLL* 基因重排 (*MLL* rearrangement, *MLL-r*) 是AL预后不良的独立因素, 这类患者具有发病年龄较小、高白细胞、多器官浸润、常规化学治疗 (化疗) 难以缓解、缓解后极易复发、生存期短等特点。但针对不同年龄阶段及不同“伙伴”融合基因患者的预后仍存在争议。目前的联合化疗和异基因造血干细胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT) 使这类患者的生存率有所提高, 但总体治疗效果仍不理想, 新的靶向药物和细胞免疫治疗有望改善 *MLL-r* 阳性白血病患儿的预后<sup>[2]</sup>。本研究拟通过分析 *MLL-r* 阳性的AL患儿的临床、实验室资料及生存情况, 探讨该类患者的临床特点及预后。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

回顾性分析2009年1月1日至2019年12月31日上海交通大学附属儿童医院收治的初发儿童AL患者633例, 依据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO)

(2008) 诊断分型标准确认为ALL患者498例和AML患者135例, 并经荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 检测和/或实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR), 明确45例 *MLL-r* 的患儿为研究对象。

### 1.2 临床诊断

临床诊断通过细胞形态学、免疫学、细胞遗传学及分子生物学检查。形态学检查采用骨髓细胞学及免疫组化。免疫分型采用直接免疫荧光标记法, 流式细胞仪canto2 (Biosciences, 美国) 进行标准化检测。*MLL-r* 采用FISH和RT-PCR检测, RT-PCR法采用上海源奇生物科技公司的试剂盒, 可检测 *MLL-AF9*、*MLL-AF6*、*MLL-AF4*、*MLL-AF10*、*MLL-ELL*、*MLL-ENL*、*MLL-AF1q*、*MLL-AF17* 等11种 *MLL* 相关融合基因。染色体核型分析采用G显带技术, 核型描述按《人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN2009)》<sup>[3]</sup>。2015年后收治的患者采用一代测序法检测ALL及AML常见基因突变, 包括: tumor protein 53 gene (*TP53*)、paired-box domain gene 5 (*PAX5*)、janus kinase 1 gene (*JAK1*)、janus kinase 2 gene (*JAK2*)、plant homeodomain finger gene 6 (*PHF6*)、cytokine receptor-like factor 2 (*CRLF2*)、notch 1 gene (*NOTCH1*)、fms-related tyrosine kinase 3 gene (*FLT3*)、nucleophosmin 1 gene (*NPM1*)、receptor tyrosine kinase gene (*c-Kit*)、CCAAT enhancer binding protein  $\alpha$  gene (*CEBPA*)、isocitrate dehydrogenase 1 (*IDH1*)、DNA methyltransferase 3A gene (*DNMT3A*)、additional sex combs-like 1 gene (*ASXL1*)、neuroblastoma RAS viral oncogene homolog gene (*NRAS*)、tet methylcytosine dioxygenase 2 (*TET2*)、

histone-modifying CREB-binding protein gene (*CREBBP*) 和 *Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene (CBL)* 等, 筛查出阳性者采用二代测序法进行定量。

### 1.3 治疗方案

**1.3.1 AML 治疗方案** 所有入组 AML 对象均采用上海交通大学附属儿童医院 AML 治疗方案 (SCH-AML 方案)<sup>[4]</sup>, 临床应用通过医院伦理委员会批准 (批准文号: 2010R030-F01), 患儿监护人均签署知情同意书。

**1.3.2 ALL 治疗方案** 所有入组 ALL 对象按收治时间分别采用 CCCG-ALL2005 方案<sup>[5]</sup> (2009 年 1 月—2014 年 12 月) 和 CCCG-ALL2015 方案<sup>[6]</sup> (2015 年 1 月—2020 年 10 月) 进行治疗, 临床应用通过医院伦理委员会批准 (批准文号: 2015R037-F01)。

**1.3.3 allo-HSCT** ALL 高危组患儿若有合适配型供者, 建议在缓解后 3 个月左右行 allo-HSCT; AML 高危组患儿若有合适配型供者, 建议在完成诱导 II 或巩固疗程 I 后行 allo-HSCT; 所有复发患者均建议行 allo-HSCT。

### 1.4 疗效评估

疗效评估标准参照《血液病诊断及疗效标准》第 3 版<sup>[7]</sup>。无事件生存 (event-free survival, EFS) 定义为从诊断到第一次事件发生或末次随访时间, 事件包括复发、死亡与未缓解。总生存期 (overall survival, OS) 定义为从诊断起至死亡或末次随访时间。本研究随访终点为 2020 年 10 月 31 日, 中位随访时间 26 个月 (2~138 个月)。

### 1.5 统计学分析

所有数据使用 SPSS 23.0 软件进行分析。定量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示; 定性资料用频数 (百分率) 表示, 2 组样本率的比较采用四格表的  $\chi^2$  检验。采用 Kaplan-Meier 法进行生存率的分析并绘制生存曲线, 组间生存率的比较采用 Log-rank 检验, 单因素分析  $P < 0.05$  的因素归入 COX 回归模型进行多因素分析, 以确定独立预后因素。 $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

45 例 *MLL-r* 阳性患者占收治 AL 患者总数的 7.1% (45/633)。男 23 例, 女 22 例, 诊断时中位年龄 29 个月 (3~136 个月)。ALL 27 例, AML 18 例, 占同期患儿的比例分别为 5.4% (27/498) 和 13.3% (18/135), 2 组患儿

*MLL-r* 检出率的差异有统计学意义 ( $\chi^2=10.067$ ,  $P=0.002$ )。*MLL-r* 阳性的 ALL 组和 AML 组患儿中年龄  $\leq 1$  岁的分别有 11 例 (40.7%) 和 2 例 (11.1%), 初发时的白细胞 (white blood cell, WBC) 数  $\geq 50 \times 10^9/L$  的患儿分别有 17 例 (62.9%) 和 5 例 (27.8%), 2 组比较差异均有统计学差异 ( $\chi^2=4.615$ ,  $P=0.032$ ;  $\chi^2=5.351$ ,  $P=0.021$ ), 2 组患儿性别分布差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.534$ ,  $P=0.465$ )。

### 2.2 形态学和免疫分型

ALL 患者中 B-ALL 患者 24 例, T-ALL 患者 3 例, 其中早期前体 B-ALL 患者 19 例 (79.2%), 普通 B-ALL 患者 5 例 (20.8%)。AML 患者中  $M_5$  型患者 14 例 (77.8%),  $M_4$  型患者 3 例 (16.7%),  $M_2$  型患者 1 例 (5.5%),  $M_4$  和  $M_5$  型患者共占 94.4% (17/18)。

### 2.3 细胞遗传学和分子生物学特征

45 例 *MLL-r* 阳性患儿通过染色体核型分析检出异常核型 30 例 (66.7%), 正常核型 10 例 (22.2%), 5 例 (11.1%) 因培养细胞生长不良无法分析 (表 1)。异常核型中包括 11 号染色体易位 26 例, 检出率为 4.1% (26/633), FISH 对 *MLL-r* 的检出率为 7.1% (45/633), 2 种方法检出率比较差异有统计学意义 ( $\chi^2=5.387$ ,  $P=0.020$ )。RT-PCR 方法检测 *MLL* 的伙伴基因 (表 1), ALL 患儿中检出 *MLL/AF4* 的 16 例 (59.2%), 其中年龄小于 1 岁的患儿 11 例 (68.7%), 非 *MLL/AF4* 组年龄小于 1 岁的患儿 3 例 (27.3%), 二者差异有统计学意义 ( $\chi^2=4.492$ ,  $P=0.034$ )。AML 患儿中检出 *MLL/AF9* 的 6 例 (33.3%)。

### 2.4 基因突变分析

共 27 例 *MLL-r* 患儿采用基因测序方法检测了常见的突变基因, 8 例 (占 29.6%) 患儿检出基因突变。其中 16 例 ALL 患儿中有 5 例 (占 31.2%) 突变基因阳性, 包括 *CREBBP* 突变 1 例、*NRAS* 突变 1 例、*NOTCH1* 突变 1 例、*CRLF2* 突变 1 例、*TP53* 突变 1 例。11 例 AML 患儿中有 3 例 (占 27.3%) 突变基因阳性, 包括 *NRAS* 突变 1 例, *NRAS* 并 *FLT3* 突变 1 例, *TET2* 并 *CBL* 突变 1 例。

### 2.5 预后分析

**2.5.1 疗效分析** 45 例患儿中, 3 例 ALL 确诊后放弃治疗, 其余 42 例均完成诱导化疗。仅 1 例婴儿 ALL 患儿诱导治疗未缓解后放弃, 余 41 例患儿均经诱导治疗缓解, 完全缓解 (complete response, CR) 率 97.6%。中位随访时间 26 个月 (2~138 个月), 中位 EFS 和 OS 时间分别为

表1 45例 MLL-r 儿童 AL 患者的细胞遗传学和分子生物学特征 [n(%)]

Tab 1 Cytogenetic and molecular characteristics of 45 AL children with MLL-r [n(%)]

Method	ALL (n=27)	AML (n=18)
<b>FISH</b>		
MLL-r	27 (100.0)	18 (100.0)
<b>Karyotype analysis</b>		
Normal Karyotype	8 (29.6)	2 (11.1)
11q23 translocation	13 (48.1)	13 (72.2)
Add (11q23) or del (11q23)	2 (7.4)	0 (0)
Other aberration	1 (3.7)	1 (5.5)
Not available	3 (11.1)	2 (11.1)
<b>RT-PCR</b>		
MLL/AF4	16 (59.2)	2 (11.1)
MLL/AF9	2 (7.4)	6 (33.3)
MLL/AF10	4 (14.8)	3 (16.7)
MLL/ENL	2 (7.4)	3 (16.7)
MLL/AF1q	1 (3.7)	1 (5.5)
MLL/AF17	0 (0)	1 (5.5)
MLL-r negative	2 (7.4)	2 (11.1)

21 个月和 24.5 个月, 3 年 EFS 和 OS 率分别为 (41.8±9.4) % 和 (60.9±9.3) %。24 例 ALL 患儿的中位 EFS 和 OS 时间分别为 21.5 个月和 28 个月, 3 年 EFS 和 OS 率分别为 (44.3±11.7) % 和 (58.2±12.1) % (图 1), 其中 2 例分别在诊断后 2 个月和 14 个月时因早期感染死亡, 1 例诱导化疗未缓解后死亡。18 例 AML 患儿中位 EFS 和 OS 时间分别为 16 个月和 23 个月, 2 年 EFS 和 OS 率分别为 (36.5±15.8) % 和 (64.7±14.5) % (图 2)。2 组患儿 EFS 及 OS 比较差异均无统计学意义 ( $\chi^2=0.182$ ,  $\chi^2=0.081$ ;  $P=0.670$ ,  $P=0.776$ )。

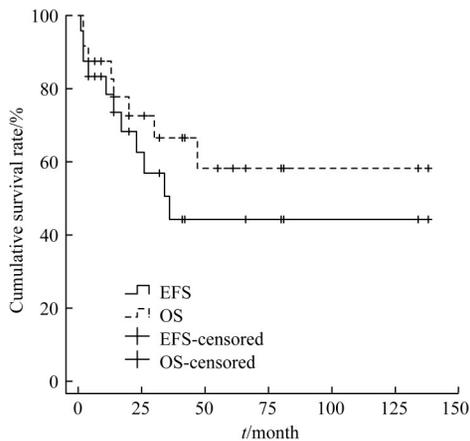


图1 MLL-r ALL 患儿的 EFS 和 OS  
Fig 1 EFS and OS of MLL-r ALL patients

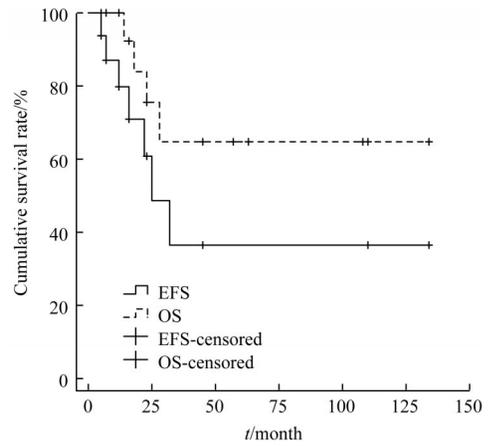


图2 MLL-r AML 患儿的 EFS 和 OS  
Fig 2 EFS and OS of MLL-r AML patients

2.5.2 复发情况分析 本组 42 例长期随访患儿, 复发 15 例, 中位复发时间为 17 个月 (2~38 个月), 累积复发率为 54% (图 3)。ALL 患儿复发 8 例, 其中骨髓复发 7 例, 睾丸复发 1 例, 中位复发时间为 20 个月 (2~36 个月), 3 年累积复发率为 48.4%。AML 患儿复发 7 例, 均为骨髓复发, 其中 1 例骨髓并中枢复发, 中位复发时间为 16 个月 (5~38 个月), 2 年累积复发率为 63.9%。ALL 组与 AML 组累积复发率比较差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.716$ ,  $P=0.398$ )。

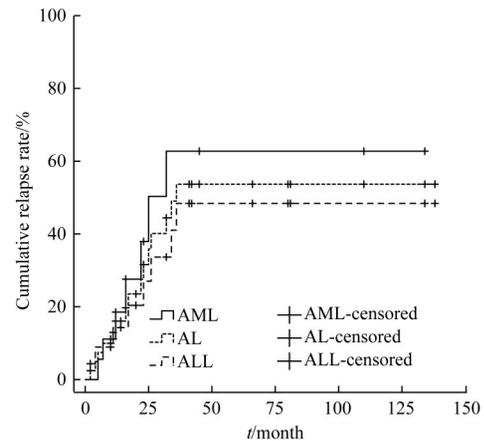


图3 MLL-r 白血病患儿的累积复发率  
Fig 3 Cumulative relapse rate in patients with MLL-r abnormalities

2.5.3 alb-HSCT 共有 8 例患儿行 allo-HSCT, 其中 6 例为复发后移植, 另 2 例高危 AML 患儿 CR1 后移植。ALL 患儿 4 例均于复发后行 HSCT, 1 例死于移植后急性移植植物抗宿主病, 1 例目前持续缓解 18 个月, 2 例二次复发。2 例二次复发患者均行嵌合抗原受体 T 细胞治疗 (chimeric antigen receptor engineered T cell, CAR-T) 后达 CR3, 其中 1 例于 CAR-T 细胞治疗后 7 个月第 3 次复发, 另 1 例目前持续缓解 3 个月计划近期二次移植。AML

患儿中2例复发后和2例CR1行造血干细胞移植,目前无病均存活。

**2.5.4 MLL-r阳性患儿EFS的影响因素单因素分析** 通过Kaplan-Meier法分析影响42例MLL-r阳性AL患儿EFS的因素,结果提示:发病时的年龄 $\leq 1$ 岁、白细胞数 $\geq 50 \times 10^9/L$ 、血小板数 $\leq 30 \times 10^9/L$ 是影响MLL-r阳性ALL患儿EFS的预后因素。将 $P < 0.05$ 的因素纳入COX回归模型进

行多因素分析,发现起病时的白细胞数( $RR=6.113$ ,  $95\%CI 0.017\sim 1.050$ ,  $P=0.013$ )为影响MLL-r阳性ALL患儿EFS的独立预后因素。但单因素分析影响MLL-r阳性AML患儿EFS的预后因素差异均无统计学意义(表2)。另外对18例AML患者进行治疗后MLL-r转阴时间分析, $> 2$ 个疗程转阴与 $\leq 2$ 个疗程转阴对患儿EFS无影响( $\chi^2=0.000$ ,  $P=0.983$ )。

表2 单因素分析影响MLL-r AL患儿的EFS的预后因素

Tab 2 Effects of different prognostic factors on the survival rates of MLL-r AL patients

Factor	ALL				AML			
	n	Median time/month	EFS/%	P value	n	Median time/month	EFS/%	P value
Gender				0.998				0.539
Male	13	20	40.0 $\pm$ 16.9		8	25	41.7 $\pm$ 22.2	
Female	11	23	46.8 $\pm$ 16.7		10	16	41.5 $\pm$ 20.7	
Age				0.028				0.449
>1 year	17	26	49.6 $\pm$ 15.1		16	14	35.0 $\pm$ 18.0	
$\leq 1$ year	7	14	28.6 $\pm$ 17.1		2	83	50.0 $\pm$ 35.4	
WBC/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )				0.024				0.530
$\geq 50$	15	17	29.1 $\pm$ 12.2		6	25	53.3 $\pm$ 24.8	
<50	9	32	75.0 $\pm$ 21.7		12	16	24.6 $\pm$ 19.8	
Hb/( $g \cdot L^{-1}$ )				0.895				0.959
0-60	3	10	66.7 $\pm$ 27.2		4	32	33.3 $\pm$ 27.2	
>60	21	23	42.5 $\pm$ 12.4		14	16	38.4 $\pm$ 19.4	
PLT/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )				0.027				0.535
$\leq 30$	7	10	19.0 $\pm$ 16.8		4	12	0	
>30	17	32	54.1 $\pm$ 14.3		14	16	45.9 $\pm$ 17.8	
Partner gene				0.223	-	-	-	0.747
MLL/AF4	15	14	36.6 $\pm$ 14.1					
MLL/AF9	-	-	-		6	22.5	37.5 $\pm$ 28.6	
Others	9	34	53.3 $\pm$ 20.5		12	12	34.1 $\pm$ 18.7	
Blast count of PB				0.214				0.872
Positive	18	14	38.2 $\pm$ 13.6		13	16	37.2 $\pm$ 19.1	
Negative	6	58	60.0 $\pm$ 21.9		5	22	37.5 $\pm$ 28.6	
Immunophenotyping				0.547				-
Pro-B	16	23	40.5 $\pm$ 13.7		-	-	-	
Others	8	20	68.6 $\pm$ 18.6		-	-	-	

Note: Hb—hemoglobin; PLT—platelet count; PB—peripheral blood.

### 3 讨论

MLL-r是造血系统恶性肿瘤常见的遗传学改变,其易位形成的MLL融合蛋白引起转录调控异常及诱导下游目的基因如HOX、EPHA7、MEIS、PBX等异常表达,从而影响造血分化,导致白血病的发生<sup>[8]</sup>。这类白血病通常表现为白细胞计数高、常规化疗不敏感、缓解后易复发、平均生存期短等,已成为AL中的一个特殊亚型。WHO

已将其列为11q23/MLL白血病<sup>[9]</sup>,对其进行检测对这类白血病的诊断及预后判断有重要意义。MLL-r见于5%~10%的儿童AL患儿,婴幼儿是一个高发群体<sup>[10]</sup>。本研究MLL-r的检出率为7.1%,中位年龄为29个月(3~136个月),发病年龄以婴幼儿为主。在ALL和AML患儿的检出率分别为5.4%和13.3%,二者差异有统计学意义( $P=0.002$ ),与文献<sup>[10]</sup>报道的发生率大致相符。MLL-r在AML患儿中的发生率高于ALL,这也可能是AML患儿

预后比ALL差的一个原因。与 *MLL-r* AML 患儿相比, 本研究 *MLL-r* ALL 患儿发病时年龄较小, 高白细胞数发生率高, 与北欧的一项对 1 425 名 0~14.9 岁的儿童白血病的研 究<sup>[11]</sup> 数据一致。

作为 AL 的一个亚组, *MLL-r* 可能与某些表型特征相关。文献<sup>[12]</sup> 报道在 *MLL-r* B-ALL 患儿中, 免疫表型多为 pro-B ALL, 是 *MLL-r* ALL 的不良预后因素。本研究 *MLL-r* ALL 患儿中 pro-B ALL 占 79.2%, 3 年的 EFS 率为 (40.5±13.7)%, 非 pro-B ALL 患儿 3 年的 EFS 率为 (68.6±18.6)%, 但二者差异无统计学意义 ( $P=0.547$ ), 可能与本组患儿随访时间较短有关。在 AML 中 11 号染色体长臂的异常在单核细胞系祖细胞的分化和成熟过程中起着重要的调控作用, 所以 *MLL-r* AML 患者的 FAB 分型与  $M_4/M_5$  具有高度相关性<sup>[13]</sup>。本研究 18 例 AML 患儿中  $M_4/M_5$  有 17 例, 占 94.4%。提示有必要对所有新发的  $M_4/M_5$  患儿进行 *MLL* 基因异常的筛查。

本研究比较 FISH 与染色体核型分析方法对 *MLL-r* 的检出率, 二者差异有统计学意义 ( $P=0.020$ )。染色体核型分析能明确伙伴染色体, 但易受细胞培养条件和实验室环境影响, 因此存在漏检的可能性。FISH 技术几乎能够检出所有的 *MLL-r* 患者, 周期短、敏感性强, 但由于受探针的限制, 无法检测出 *MLL* 的伙伴基因。结合 RT-PCR 方法, 本中心可检测 *MLL/AF9*、*MLL/AF6*、*MLL/AF4*、*MLL/AF10*、*MLL/ELL*、*MLL/ENL*、*MLL/AF1q*、*MLL/AF17* 等 11 种 *MLL* 相关融合基因, 弥补了 FISH 方法的不足。ALL 患儿 *MLL* 的伙伴基因以 *AF4* 为主, 占 59.2%, 并且 *AF4* 组年龄小于 1 岁的患儿占 68.7%, 与非 *AF4* 组小于 1 岁的患儿数相比差异有统计学意义 ( $P=0.034$ )。AML 患儿 *MLL* 的伙伴基因以 *AF9* 为主, 占 33.3%。有临床研究<sup>[14]</sup> 表明 *MLL* 的伙伴基因是最终白血病表型的主要决定因素, *MLL/AF4* 主要与淋巴系恶性肿瘤有关, 而 *MLL/AF9* 更多地导致髓系恶性肿瘤, 本研究结果与其一致。

研究<sup>[15]</sup> 报道, 超过 45% 的 *MLL-r* 阳性的白血病患者同时合并基因突变, 最常见的突变涉及 RAS 通路, 如 *NRAS*、*KRAS*、*PTPN11* 等。这些突变对 *MLL-r* 阳性白血病的预后影响存在争议, 但将来有可能成为治疗的新靶点<sup>[16]</sup>。本研究对 27 例 ALL 患者进行突变基因检测, 8 例阳性 (占 29.6%)。低于文献报道的原因, 可能与检测方法的敏感度有关。其预后意义有待于累积病例及延长随访时间来进一步研究。

*MLL-r* 阳性白血病患者对化疗不敏感, 且缓解后易复发, 平均生存期短。美国国立综合癌症网络 (National

Comprehensive Cancer Network, NCCN) 将除 *MLL/AF9* 以外的其他 *MLL-r* 归为 AML 的预后不良因素, 复发率为 47%~100%, 生存率为 0~45%<sup>[17]</sup>。对于 *MLL-r* ALL 也被归为高危组, 生存率为 50%~60%<sup>[18]</sup>。这类患儿单用化疗, 由于复发率高, 长期生存率很差。本组 *MLL-r* ALL 和 *MLL-r* AML 患儿 EFS 和 OS 率均低于本中心前期研究中 ALL 和 AML 患儿 5 年的 EFS 率 (74.8% 和 56.5%) 和 OS 率 (82.6% 和 69.6%)<sup>[4-5]</sup>, 同时本组 *MLL-r* AML 患儿 2 年 EFS 率也低于本中心前期研究中  $M_4/M_5$  患儿 3 年 EFS 率 (51.9%)<sup>[19]</sup>, 提示  $M_4/M_5$  伴有 *MLL-r* 可能是儿童 AML 预后更差的因素。

目前已被证明发病时的年龄、白细胞数、CD10 是否表达、对泼尼松的治疗反应是影响 *MLL-r* ALL 预后的因素<sup>[20]</sup>。80%~90% 的 *MLL-r* 患者经诱导化疗会进入缓解状态, 但复发率高 (50%~60%); 最常见的复发部位是骨髓, 加强化疗可降低复发率, 但同时也会增加治疗相关的并发症和死亡率<sup>[21]</sup>。文献报道, 大于 1 岁的 *MLL-r* ALL 患儿的预后比婴儿好 (5 年 EFS 60% vs 42.3%), 但仍比 *MLL-r* 阴性的儿童差 (5 年 EFS 为 92%)<sup>[22]</sup>, 而 *MLL-r* 阳性的婴儿 AML 并没有比 *MLL-r* 阴性者有更差的预后<sup>[23]</sup>。本组患儿的诱导缓解率为 97.6%, 与国内文献报道相仿<sup>[24]</sup>; 复发率为 35.7%, 略低于文献<sup>[14]</sup>; ALL 组年龄  $\leq 1$  岁的患儿预后比  $> 1$  岁患儿差 ( $P=0.028$ ), 3 年 EFS 率分别为 (28.6±17.1)% 和 (49.6±15.1)%, 而在 AML 组并没有显示出这种差异。本研究白细胞数  $\geq 50 \times 10^9/L$  和  $< 50 \times 10^9/L$  的 ALL 患儿 3 年的 EFS 率分别为 (29.1±12.2)% 和 (75±21.7)%, 差异有统计学意义 ( $P=0.024$ ), 而 AML 组差异则无统计学意义。

*MLL* 的伙伴基因有 80 多个, 可以导致 130 多种不同的重排<sup>[14]</sup>。既往研究显示, ALL 中 *MLL/AF4* 融合与较差的生存相关<sup>[25]</sup>, AML 中 *MLL/AF9* 有中间到良好的预后<sup>[26]</sup>。但也有临床研究并未发现 *MLL-r* AL 患者的复发或存活与任何特定融合伙伴有显著的关联。来自 15 个国家的 11 个研究组的 756 名 *MLL-r* AML 患者融合伙伴与结果之间关系的 meta 分析表明, OS 差异很大, 这项研究没有证实以前报道的 *MLL-AF9* 易位的可能的“良好风险”特征<sup>[26]</sup>。这可能与 *MLL-r* 白血病通常不采用统一的治疗方案有关。尽管有很多的融合伙伴存在, 目前 *MLL-r* 白血病主要根据表型 (AML 与 ALL) 和年龄 (婴儿白血病) 进行管理, 大多数的临床危险度分层没有考虑融合伙伴。本研究 ALL 患儿中 *AF4* 与非 *AF4* 组 3 年的 EFS 率分别为 (36.6±14.1)% 和 (53.3±20.5)%, 但差异无统计学意义。AML 中 *AF9* 与非 *AF9* 组 2 年 EFS 率分别为 (37.5±

28.6%)%和(34.1±18.7)%，与上述文献报道相仿。

传统的化疗已被证明不足以改善MLL-r白血病患者的预后，而造血干细胞移植可将复发率降低到30%~40%，生存率提高到50%~60%<sup>[27]</sup>。日本的一项研究对132例具有MLL-r的婴儿ALL患者的allo-HSCT进行分析，显示移植后5年OS率为(67.4±4.5)%<sup>[28]</sup>。但也有报道对于初诊的MLL-r ALL患者，allo-HSCT后5年EFS率仅为48.8%，并没有让MLL-r初诊患者获益<sup>[29]</sup>，所以allo-HSCT可能是复发患者有效的治疗手段。CAR-T可使复发ALL患者达到再次缓解，但缓解状态持续时间有限，需要进一步桥接造血干细胞移植<sup>[30]</sup>。本组4例ALL患儿复发后行allo-HSCT，其中2例二次复发，均于再复发后行CAR-T治疗缓解，其中1例于CAR-T治疗后7个月第3次

复发，另1例目前CAR-T治疗后3个月仍为缓解状态，计划行二次移植。Chen<sup>[31]</sup>等报道的CR1中的allo-HSCT对改善MLL-r AML患者的OS(39% vs 13%,  $P < 0.001$ )和无复发生存率(40% vs 10%,  $P < 0.001$ )有显著的好处。本组4例MLL-r AML行allo-HSCT，2例高危患者CR1，2例复发患者CR2，目前均处于缓解状态；其中1例随访超过5年目前仍存活，另3例随访时间较短，还需要延长随访时间来进一步观察预后。

MLL-r阳性的儿童急性白血病(ALL和AML)缓解率尚可，但复发率高，总体生存率低。MLL-r ALL患儿发病时的白细胞数 $> 50 \times 10^9/L$ 是预后不良的独立因素。allo-HSCT和CAR-T有望改善这部分患儿的预后，但还需要大样本、多中心的临床研究来证实。

### 参·考·文·献

- [1] Yang L, Ding L, Liang J, et al. Relatively favorable prognosis for MLL-rearranged childhood acute leukemia with reciprocal translocations[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2018, 65(10): e27266.
- [2] Gole B, Wiesmüller L. Leukemogenic rearrangements at the mixed lineage leukemia gene (MLL)-multiple rather than a single mechanism[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2015, 3: 41.
- [3] Shaffer LG, Slovak ML, (eds)Campbell LJ. ISCN 2009: an international system for human cytogenetic nomenclature (2009): recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature[M]. Basel: Karger, 2009.
- [4] 朱嘉蔚, 蒋慧, 陆正华, 等. 儿童急性髓系白血病的疗效及预后相关因素分析[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2016, 21(4): 211-215.
- [5] 李红, 蒋慧, 朱嘉蔚, 等. CCG-ALL 2005 方案单中心 10 年随访研究[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2020, 25(2): 60-64.
- [6] 林嘉乐, 刘亢元, 储金华, 等. 急性淋巴细胞白血病儿童营养状况与医院感染相关性研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(3): 767-774.
- [7] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准(第三版)[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 116-121.
- [8] Slany RK. The molecular mechanics of mixed lineage leukemia[J]. *Oncogene*, 2016, 35(40): 5215-5223.
- [9] Cox MC, Panetta P, Venditti A, et al. Fluorescence *in situ* hybridization and conventional cytogenetics for the diagnosis of 11q23/MLL<sup>+</sup> translocation in leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2003, 121(6): 953-955.
- [10] Dafflon C, Tiedt R, Schwaller J. Targeting multiple nodes of MLL complexes to improve leukemia therapy[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53): 90614-90615.
- [11] Forestier E, Schmiegelow K, Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology NOPHO. The incidence peaks of the childhood acute leukemias reflect specific cytogenetic aberrations[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2006, 28(8):486-95.
- [12] 弓晓媛, 王迎, 刘兵城, 等. CD10阴性的前B急性淋巴细胞白血病的临床特征以及预后分析[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1): 17-21.
- [13] 王彤, 赵燕, 张青青, 等. 成人AML伴MLL重排患者临床特征及预后影响因素探讨[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(3): 775-780.
- [14] Meyer C, Burmeister T, Gröger D, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017[J]. *Leukemia*, 2018, 32(2): 273-284.
- [15] Mansur MB, Ford AM, Emerenciano M. The role of RAS mutations in MLL-rearranged leukaemia: a path to intervention? [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868(2): 521-526.
- [16] Matsuo H, Yoshida K, Nakatani K, et al. Fusion partner-specific mutation profiles and KRAS mutations as adverse prognostic factors in MLL-rearranged AML[J]. *Blood Adv*, 2020, 4(19): 4623-4631.
- [17] Tomizawa D, Tanaka S, Hasegawa D, et al. Evaluation of high-dose cytarabine in induction therapy for children with *de novo* acute myeloid leukemia: a study protocol of the japan children's cancer group multi-center seamless phase II - III randomized trial (JPLSG AML-12)[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2018, 48(6): 587-593.
- [18] Sun YN, Hu YX, Gao L, et al. The therapeutic efficacy of pediatric ALL patients with MLL gene rearrangement treated with CCLG-ALL2008 protocol[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(18): 6020-6029.
- [19] 陈凯, 蒋慧, 陆正华, 等. 儿童急性髓系白血病(M<sub>1</sub>/M<sub>2</sub>亚型)临床疗效及预后因素分析[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2018, 33(3): 186-190.
- [20] Cui L, Li ZG, Chai YH, et al. Outcome of children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia treated with CCLG-ALL 2008: the first nationwide prospective multicenter study in china[J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(7): 913-920.
- [21] Dreyer ZE, Hilden JM, Jones TL, et al. Intensified chemotherapy without SCT in infant ALL: results from COG P9407 (cohort 3)[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2015, 62(3): 419-426.
- [22] Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(16):1541-52.
- [23] Bolouri H, Farrar JE, Triche T, et al. The molecular landscape of pediatric acute myeloid leukemia reveals recurrent structural alterations and age-specific mutational interactions[J]. *Nat Med*, 2018, 24(1): 103-112.
- [24] 王书春, 陈晓娟, 刘晓明, 等. 28例MLL阳性急性淋巴细胞白血病患儿的治疗转归[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(2): 359-364.
- [25] Britten O, Ragusa D, Tosi S, et al. MLL-rearranged acute leukemia with t(4;11)(q21;q23)-current treatment options. Is there a role for CAR-T cell therapy?[J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1341.
- [26] Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study[J]. *Blood*, 2009, 114(12): 2489-2496.
- [27] Bai L, Cheng YF, Lu AD, et al. Prognosis of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in non-infant children with t(v;11q23)/MLL-rearranged B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Res*, 2020, 91: 106333.
- [28] Kato M, Hasegawa D, Koh K, et al. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for infant acute lymphoblastic leukaemia with KMT2A (MLL) rearrangements: a retrospective study from the paediatric acute lymphoblastic leukaemia working group of the japan society for haematopoietic cell transplantation[J]. *Br J Haematol*, 2015, 168(4): 564-570.
- [29] Fagioli F, Quarello P, Zecca M, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: a report from the AIEOP registry[J]. *Haematologica*, 2013, 98(8): 1273-1281.
- [30] Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update[J]. *Blood Cancer J*, 2017, 7(6): e577.
- [31] Chen Y, Kantarjian H, Pierce S, et al. Prognostic significance of 11q23 aberrations in adult acute myeloid leukemia and the role of allogeneic stem cell transplantation[J]. *Leukemia*, 2013, 27(4): 836-842.

[收稿日期] 2020-12-18

[本文编辑] 张慧俊